Aus der Klinik und Poliklinik
für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten
der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. Dr. Eugen Fröhlich

Erzeugung von gefleckтem Schmelz an den unteren Incisivi bei Osborne - Mendel - Ratten

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Wolf Neddermeyer
aus Berlin

1969

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543901_0046

Aus der Klinik und Poliklinik
für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten
der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. Dr. Eugen Fröhlich

Erzeugung von gefleckтem Schmelz an den unteren Incisivi bei Osborne - Mendel - Ratten

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Wolf Neddermeyer
aus Berlin

1969

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan: Professor Dr. J. Hirschmann

Berichterstatter: Professor Dr. Dr. P. Riethe

FOTODRUCK PRÄZIS Barbara v. Spangenberg KG • Tübingen

Meinen lieben Eltern gewidmet

Tübingen 1969

Inhaltsverzeichnis

EINLEITUNG Seite 1 - 7

Definition des gefleckten Schmelzes
Fluortoxicose
Organische Fluorverbindungen
Aminfluoride

VERSUCH Seite 7 - 25

Methodik und Material
Allgemeiner Versuchsverlauf
Veränderungen an den unteren Incisivi

AUSWERTUNG Seite 26 - 34

Makroskopische Auswertung
Statistische Auswertung

DISKUSSION Seite 35

ZUSAMMENFASSUNG Seite 38

ANHANG

LITERATURVERZEICHNIS

Einleitung

Gefleckter Schmelz ("mottled enamel") wurde erstmals bei Kühen beobachtet, die in der Nähe von Aluminiumfabriken grasten. Die chemische Analyse ergab eine Anreicherung des Grases mit HF (Flußsäure), die mit dem Fabrikrauch nach außen gelangt war und von den Tieren aufgenommen wurde. Der so entstandene "mottled enamel" konnte später auch im Tierexperiment erzeugt werden.

Smith, M.C., Lantz, E.M. und Smith, H.V. (1931) stellten fest, daß fluoridiertes Trinkwasser gefleckten Schmelz bei Ratten erzeugt. Auch Velu, H. und Charnot, A. (1938) konnten mit Fluor in Form von HF künstlich gefleckten Schmelz hervorrufen. Ein einheitlicher, wissenschaftlicher Name für dieses Erscheinungsbild existiert nicht: in Deutschland spricht man von "geflecktem Schmelz" oder "Zahnfluorose", im amerikanischen Schrifttum wird häufig der Ausdruck "mottled enamel","Fluorosis" und manchmal auch "chalky enamel" gebraucht (Schmidt, H.J. 1967).

McKay, F.S. und Black, G.V. (1916) geben eine detaillierte Beschreibung des gefleckten Schmelzes:

"Der gefleckte Schmelz ist durch kleine weiße Punkte, gelbe oder braune Flecken bzw. Flächen charakterisierbar. Sie können entweder unregelmäßig oder streifig an der Zahnoberfläche verteilt sein. Auch kann der ganze Zahn wie vergilbtes Papier aussehen. In vielen Fällen jedoch ist der Schmelz gesprenkelt. Unregelmäßige, flache Grübchen, die gewöhnlich dunkel verfärbt sind, geben dem Zahn ein solches Aussehen. Es können alle, oder auch nur einzelne Zähne befallen sein."

In Anlehnung an Ainsworth, N.J. (1933) bietet der gefleckte Schmelz mikroskopisch betrachtet folgendes Bild:

"Die Retzius'schen Streifen sind dünn aber dunkel, besonders im äußeren Drittel. Ursache dafür ist ein Mangel an interprismatischer Substanz".

Schour, J. und Smith, M.C. (1935) beschreiben den gefleckten Schmelz, wie er durch Injektion einer 2,5 % NaF-Lösung an Ratten entstand: "Der Schmelz zeigt helle und dunkle Streifen. Die Breite eines jeden Paares betrug 16µ und entspricht den Wachstumslinien in 24 Stunden. Die lichten Streifen waren unregelmäßig verkalkt; die dunklen wiesen normale bis erhöhte Verkalkung auf, wobei die erhöhte Verkalkung als Erholungsreaktion der Pulpa auf die Fluorwirkung angesehen wird."

Jeanneret, R. (1964) führt aus, daß der gefleckte Schmelz "eine lokalisierte trophische Störung der Schmelzmineralisation vor dem Zahndurchbruch" ist. Bei durchgebrochenen Zähnen ist kein gefleckter Schmelz mehr zu erwarten, da sich die Störung der Mineralisationsfunktion der Ameloblasten durch das Fluor nicht mehr auf den Schmelz auswirken kann. Schmelz und Schmelzmatrix sind zu diesem Zeitpunkt voneinander getrennt.

Von "Dentalfluorose" oder beginnender "Fluortoxikose" sollte man beim fluorbedingten gefleckten Schmelz nicht sprechen, weil eine Störung der Schmelzmineralisation noch kein Zeichen dafür ist, daß gleichzeitig auch andere Organe betroffen wurden. Eine Fluortoxikose kann, muß aber nicht, mit gefleckten Schmelz einhergehen.

Die Toxizität des Fluors am Zahnsystem (Herrmann, M. und Rozeik, F. 1959) zeigt sich nicht nur als Bild des gefleckten Schmelzes. Die Dentition ist verzögert, die Pulpa hyperämisch und die Zahnhärte ist herabgesetzt. Wie durch Härtemessungen (Newbrun, H. und Brudevold, F. 1959) nachgewiesen wurde, ist sie umgekehrt proportional dem Fluorosestadium.

Dies ist verständlich, wenn man bedenkt, daß der gefleckte Schmelz aus drei- bis viermal mehr organischer Substanz besteht, als der ihn umgebende gesunde Schmelz (Stack, M.V. 1954).

Ein weiteres Symptom der Fluortoxizität (Herrmann, M. und Rozeik, F. 1959) ist die Senkung des Phosphatspiegels bei normalem Ca-Spiegel; Wachstumshemmung der Incisivi und gestörte Knochenbruchheilung gehören ebenfalls zu dem genannten Komplex.

Für den tierexperimentellen Nachweis des gefleckten Schmelzes ist es wesentlich zu wissen, wie die Entwicklung desselben abläuft.

"Die Rattenschneidezähne sind weiß, wenn sie durchbrechen. Kurz danach entwickelt sich auf den Labialflächen der oberen und unteren Schneidezähne eine braune Farbe, die schnell dunkelt, bis vollständige Einfärbung erreicht ist (20.-30. Lebenstag). Bei Fluoraufnahme ist die Verfärbung entweder verspätet oder tritt nicht auf, je nach Menge. De Eds, F. (1941) hat festgestellt, daß eine ununterbrochene tägliche Fluoraufnahme von 0,0014g% eine entdeckbare Bleichung am Rattenzahn bewirkt. Ferner weist er darauf hin, daß die flüssigen F-Verbindungen, wie z.B. NaF, giftiger sind als die weniger löslichen, wie z.B. Kryolith, wenn man als Kriterium die Größe nimmt. Wird jedoch die Bleichkraft genommen, so ist kaum ein Unterschied von löslicher und

unlöslicher F-Verbindung." (De Eds, F. 1941)

Im Gegensatz zum Menschen verträgt die Ratte außerordentliche F-Mengen (Cox, G.J. et al. 1939). Als schädliche Dosen für die Ratte sehen Pande, P.C. (1945) 8 - 12 parts per million (mg/l), Smith, M.C. und Leverton, R.M. (1934) 7 - 14 ppm. Fluor in der Nahrung an. Mc. Cauley, H.B. (1944) gibt 200 ppm. F als die Menge an, die gerade noch vertragen wird. Nach Chaneles, J. (1931) liegt die tödliche Dosis bei 150 - 200 mg F/kg Körpergewicht iv..

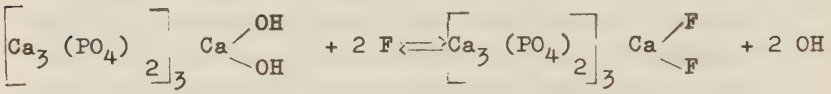
Spira, L. (1949) gibt die Zusammenfassung der Symptome bei Ratten, wie sie sich bei steigender F-Konzentration zeigten. NaF wurde im Trinkwasser verabreicht:

60 ppm. Fluor	untere Schneidezähne sind bei manchen Ratten depigmentiert.
100 ppm. Fluor	$\overline{11}$ verlieren braunes Pigment, Gähnen tritt auf.
150 ppm. Fluor	Schluckauf.
160 ppm. Fluor	Einige Tiere hatten wunde Stellen.
170 ppm. Fluor	Das Fell ist gesträubt.
180 ppm. Fluor	Beginnende Depigmentierung von $\overline{1|1}$.
220 ppm. Fluor	Alopecia areata.
240 ppm. Fluor	Exophtalmus.
340 ppm. Fluor	Die Tiere starben innerhalb von 2 Tagen..

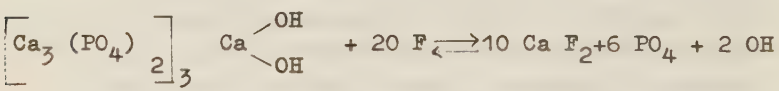
Wie aus den bisherigen Ausführungen deutlich wird, wurden nur anorganische Fluorverbindungen verwandt. Da letztlich die Fluortherapie zur Schmelzhärtung dient und der gefleckte Schmelz nur bei F-Überdosierung auftritt, wurden auch andere Trägerstoffe für das Fluor herangezogen, die die F-Konzentration im Schmelz erhöhen. Mühlemann, H.R., Schmid, H. und König, K.G. (1957) berichteten als erste über Aminfluoride. Bei In-vitro-Versuchen, in denen die Schmelzlöslichkeitsreduktion von organischen Diaminfluoriden untersucht wurde, stellte sich heraus, daß diese Substanzen (Cetylaminhydrofluorid = Verbindung 242 und Ethoduomeendihydrofluorid = Verbindung 297)die Säurelöslichkeit des Schmelzes stärker reduzierten,als die anorganischen Fluoride (SnF_2). Auch Hürny, Th. (1963) kam zu demselben Ergebnis. Im Rahmen dieser Ausführungen interessieren nur die organischen Fluoride. Während anorganische Fluoride Salze der Flußsäure sind, sind organische Fluoride Salze oder Additionsverbindungen von HF mit Kohlenwasserstoffaminen. Deshalb ist es besser, von organischen Aminfluoriden zu sprechen. Das Fluor ist meist in kovalenter Bindung über Aminogruppen mit einem organischen Rest verbunden, statt mit einem Metall oder Alkalimetall. Dieses F ist ionisiert und titrierbar.

Davon sind die eigentlichen organischen Fluorverbindungen zu trennen, in denen das Fluor direkt an das C-Atom gebunden ist, anstelle von H-Atomen. Das Fluor ist hier nicht ionisiert. (Mühlemann, H.R. et al. 1960).
1967 berichtet Mühlemann, H.R. über die kariespro-

phylaktische Wirkung der Aminfluoride. Dabei stellt er fest, daß die Reaktion, die das ionisierte Fluor mit dem Schmelz eingeht, von der Konzentration der Fluorlösungen abhängig ist. Bei geringer Konzentration (100 ppm.) fördern die Aminfluoride durch ihre Affinität zum Schmelz die direkte Apatitbildung nach der Formel:



Bei hoher Konzentration (F>100 ppm.) kommt es innerhalb von Sekunden zur Umsetzung des Hydroxylapatits. Dabei werden Calciumionen frei, die mit den in einer Lösung vorhandenen F-Ionen Calciumfluorid (CaF_2) bilden, das auf dem Schmelz in Form feinster Globuli ausfällt. Gleichzeitig gehen PO_4^{--} Ionen in Lösung, gemäß nachstehender Gleichung:



In der vorliegenden Arbeit wurden den Versuchstieren Aminfluoride in Wasser verabreicht. Da die Rattenincisivi dauernd wachsen, kann man an ihnen sehr gut die Fluorwirkung studieren. Das mit dem Wasser aufgenommene Fluor gelangt über den Blutkreislauf in die interstitielle Flüssigkeit, die die fertig gebildeten Kronen umgibt, wobei der Schmelz das Fluor nach der oben aufgeführten Reaktion (siehe Reaktion bei geringer Konzentration) aufnimmt.

Brudevold, F. (1969) hat festgestellt, daß Schichten, die dem kapillaren Kreislauf bzw. der interstitiellen Flüssigkeit am nächsten liegen, am fluorreichsten sind.

Dabei bleibt der Fluorgehalt zwischen oberflächlichen und tiefen Schichten im Verhältnis immer gleich.

Riethe, P. (1968) hat in Versuchen festgestellt, daß nach Lokalapplikationen mit Aminfluoriden die äußerste Schmelzschicht am fluorreichsten ist.

Im folgenden Versuch soll gezeigt werden, daß die Verbindungen 242, 297 und 335 an Rattenzähnen gefleckten Schmelz hervorrufen.

METHODIK, MATERIAL

Für den Versuch standen hundert Osborne-Mendel-Ratten zur Verfügung. Nach ihrer Entwöhnung am 21. Tag wurden sie in 5 Gruppen zu je 20 Tieren unterteilt.

Jede der 5 Gruppen wurde wiederum in 4 Käfige zu je 5 Ratten aufgeteilt, um somit bessere Durchschnittsergebnisse zu erzielen. Die Aufteilung der Tiere auf die einzelnen Käfige erfolgte nach folgenden Gesichtspunkten:

1. Ungefähr einheitliche Durchschnittsgewichte in allen 5 Gruppen (33 g in diesen Versuchen).

2. Es wurden nicht zwei Tiere des gleichen Wurfs in einen Käfig gesetzt.

3. Alle Tiere mußten gesund sein.

Drei organische Aminfluoride wurden untersucht:

1. Cetylaminhydrofluorid $CH_3 (CH_2)_{15} - NH_2 - HF$

   = Verb. 242. Sie ist von weißer Farbe und fester Konsistenz und in aqua dest. löslich.

2. Ethoduameendihydrofluorid

$$\left[CH_3 (CH_2)_{17} - \underset{\displaystyle CH_2CH_2OH}{\overset{|}{N}} - (CH_2)_3 - N\begin{matrix} CH_2CH_2OH \\ CH_2CH_2OH \end{matrix} \right] \cdot 2\ HF$$

   = Verb. 297. Sie ist von vaselineähnliche Farbe, jedoch festerer Konsistenz und in aqua dest. löslich.

3. Oleylamin hydrofluorid

$$\left[CH_3 (CH_2)_7 - CH = CH - (CH_2)_7 - CH_2 - NH_2 \right] \cdot HF$$

   = Verb. 335. Sie ist von rötlicher Farbe und fester Konsistenz und ebenfalls in aqua dest. löslich.

Die Verbindungen wurden folgendermaßen den Gruppen zugeteilt.

Gruppe I - Verbindung 242 in aqua dest. und Futter ad. lib.
Gruppe II - Verbindung 335 in aqua dest. und Futter ad. lib.
Gruppe III - Verbindung 297 in aqua dest. und Futter ad. lib.

Gruppe IV - Verbindung 242 in Futter und normales Trinkwasser ad. lib.

Gruppe V - Futter und Trinkwasser ad. lib. (Kontrollgruppe)

Die Trockennahrung für alle Tiere setzte sich aus

25 Teilen Magermilchpulver
25 Teilen Vollmilchpulver
50 Teilen Weizenbackschrot

zusammen.

Die Futteraufnahme erfolgte aus Glasbehältern, in denen ein Sieb auf dem Futter lag, das praktisch kein Verschleudern der Trockennahrung erlaubte.

Um auch den Verlust an Trinkwasser zu verhindern, wurden Laufrohre angefertigt, an deren Ende das Trinkgefäß angeschweißt war und deren Boden unterhalb der Wasseraustrittsstelle ausgebeult wurde, damit sich abtropfendes Wasser dort sammeln konnte. Dieses, sonst verlorengegangene, Wasser wurde, wie es sich im Verlaufe des Versuches herausstellte, von den Tieren zuerst aufgenommen. Dann erst saugten sie das Wasser aus dem Gefäß.

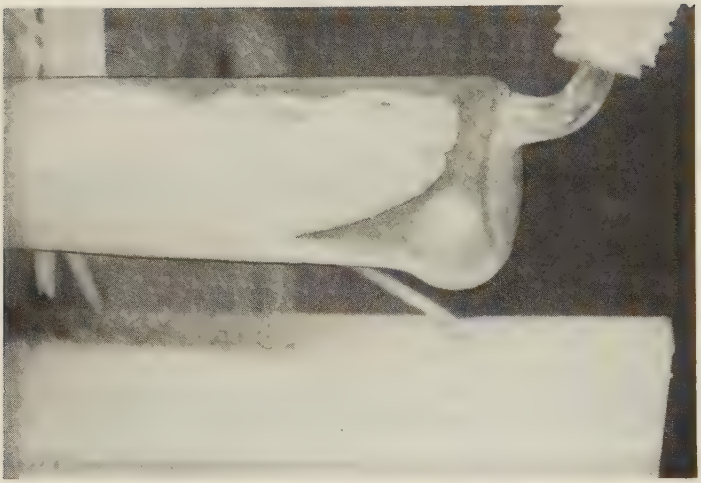


Abb. 1:

Laufrohr mit ausgebeultem Boden und eingeschweißtem Trinkgefäß.

Während der 52tägigen Versuchsdauer wurden die Ratten alle vier Tage gewogen (außer dem 4. Tag) und jeden zweiten Tag mit Futter und Flüssigkeit versehen.

Von Gruppe I, II, III wurde die verbrauchte Wassermenge, von Gruppe IV die Futtermenge gemessen.
Bei Gruppe V wurden Futter- und Flüssigkeitsverbrauch alle zwei Tage bestimmt.
Jeweils am 27. und 41. Tag wurden je 4, am 52. Tag die restlichen Tiere geopfert, Oberkiefer und Unterkiefer wurden herauspräpariert und in 10 %iger Formalinlösung aufbewahrt.

VERSUCHSVERLAUF

a) Allgemeinbefinden der Tiere

Nachfolgend werden die Durchschnittsgewichte der Gruppen I, II und III und die durchschnittliche Flüssigkeitsaufnahme in Abhängigkeit von der Konzentration der Verbindung beschrieben und mit der Kontrollgruppe verglichen.
Die Konzentration wurde über 52 Tage wie folgt verteilt:

1. - 8. Tag	=	1. Phase	--- 0,003 %	
8. - 16. Tag	=	2. Phase	--- 0,033 %	
16. - 24. Tag	=	3. Phase	--- 0,055 %	
24. - 32. Tag	=		--- 0,166 %	der jew. Verbindungen
32. - 40. Tag	=	4. Phase	--- 0,166 %	
40. - 44. Tag	=		--- 0,166 %	
44. - 48. Tag	=		--- 0,200 %	
48. - 52. Tag	=	5. Phase	---0, 200 %	

Gruppe IV wird später gesondert abgehandelt.

Alle Tiere waren zu Beginn des Versuches gesund und äußerst lebhaft. Ihr Fell glänzte, der Kot war von fester Konsistenz und dunkelbrauner Farbe.

1. Phase:

8 Tage lang wurde eine 0,003 %ige Lösung, der je nach Gruppe verschiedenen Verbindung, zugegeben.

Nach dieser Zeit war die Flüssigkeitsaufnahme in allen 3 Gruppen und der Kontrollgruppe gleich. Auch eine Abweichung der Durchschnittsgewichte pro Tier war in dieser Zeit nicht festzustellen. Es waren keinerlei Veränderungen aufgetreten.

2. Phase:

Nach weiteren 8 Tagen, insgesamt also 16 Tagen, in denen die Konzentration der Lösungen auf 0,033 % erhöht wurde, zeigte sich eine verminderte Getränkeaufnahme aller Gruppen gegenüber der Kontrollgruppe. Untereinander blieb sie jedoch ziemlich einheitlich. Gruppe II schien etwas weniger aufzunehmen. Die Gewichtsverhältnisse von I, II, III und V zeigten, außer ein paar Schwankungen, keine nennenswerten Abweichungen. Noch waren die Tiere lebhaft wie am ersten Tag, das Fell hatte jedoch etwas an Glanz verloren (siehe auch Anhang Tabelle 1).

3. Phase:

Die Tiere hatten 8 Tage eine 0,055 %ige Lösung erhalten. Es machten sich jetzt deutlich Unterschiede in der Getränkeaufnahme bemerkbar. Gruppe II hatte in dieser Zeit am wenigsten aufgenommen (103 ml/Tier), Gruppe I etwas mehr (109 ml/Tier), Gruppe III am meisten mit 111 ml/Tier. Im Vergleich zur Kontrollgruppe V mit 143 ml/Tier konnte deutlich bemerkt werden, daß die Verbindungen begannen, die Getränkeaufnahmen zu beeinflussen.

Die Gewichtsunterschiede wiesen jedoch schon größere Schwankungen als in Phase 2 auf und waren noch als untereinander gleichwertig anzusehen

(siehe auch Anhang Tabellen 1a - 1d).

Auffallend war bei Gruppe II und III, daß bei den Tieren das Fell struppiger und stumpfer wurde. Die Konsistenz des Kotes war weicher und seine Farbe bei diesen beiden Gruppen gelbbraun.

4. Phase:

20 Tage wurde dann eine 0,166 %ige Lösung gegeben. Gruppe I nahm 123 ml, Gruppe II 90 ml, Gruppe III 194 ml in dieser Zeit auf. Die Flüssigkeitsaufnahme von Gruppe V (718 ml) macht die Wirkung der Verbindungen deutlich.

Diese Trinkunlust bei der 0,166 %igen Lösung zeigte sich auch darin, daß die Tiere während der 20 Tage ungefähr so viel zu sich genommen hatten,wie die Kontrollgruppe vom 8. - 16. Tag. Auch Gewichtsunterschiede wurden festgestellt. Stieg bis zum 24. Tag die Gewichtskurve für alle Gruppen noch parallel und linear an, so senkte sie sich nach einer Latenzzeit von ungefähr 3 Tagen, für Gruppe II am meisten, für Gruppe I und III liefen sie noch untereinander parallel (etwa 20 g pro Käfig). Diese beiden Gruppen wichen jedoch erheblich von der Kontrollgruppe ab.

Am Ende des 44. Versuchstages bot sich folgender Vergleich:
Das Durchschnittsgewicht von Gruppe I beträgt 145 g;
bei der Gruppe II sind es 114 g,
bei Gruppe III 135 g
und Gruppe V hat ein Durchschnittsgewicht von 213 g.

Die Tiere der Gruppen I, II und III waren dünner geworden, das Fell wirkte struppig, die Bewegungen waren langsamer und kraftloser. Bei Gruppe II und III trat Diarrhoe auf. Aus Gruppe II starb ein - (Endgewicht 68 g), aus Gruppe III zwei Tiere (Endgewicht 100 g und 80 g) am 44. Tag. In der 5. Phase erhielten die restlichen Tiere für 8 Tage eine 0,20 %ige Lösung (siehe auch Anhang Tabellen 1 a,b,c,d). Die Getränkeaufnahme wurde stark reduziert. Besonders bei der Gruppe II (44 ml pro Tier in 8 Tagen!). Auch Gruppe I und III nahmen in dieser Zeit weniger zu sich. Nur Gruppe V machte deutlich, wieviel ein normal gesundes Tier in dieser Zeit aufgenommen haben mußte: 421 ml! Das entspricht ungefähr der zehnfachen Menge.

Die Gewichtszunahme bei Gruppe II und III vom 48. Tag an wird dadurch erklärt, daß nur noch die stärksten Tiere übriggeblieben sind, denn von Gruppe II starben bis zum 48. Tag weitere 2 Tiere, aus Gruppe III 3 Tiere.

Das Allgemeinbefinden der Tiere von Gruppe I war im Vergleich zu denen von II und III annähernd normal. Letztere warenkachektisch und zeigten eine ausgeprägte Diarrhoe. Ihr Fell war hart, struppig und ohne Glanz.

Abb. 2:

Größenunterschied vom Kontrolltier aus Gruppe I und einem Tier der Gruppe II am 52. Tag.

Setzt man als Kriterium für die Toxizität der Verbindungen die Getränkeaufnahme und Gewichtsveränderungen, so kann man sagen, daß die Verbindung 335 am giftigsten war. Der Gesamtverbrauch betrug während der 52 Tage 402 ml (siehe Tabelle 1). Bei Gruppe I mit Verb. 242 waren es 452 ml und bei der Gruppe III 549 ml. Aus Abbildung 2 läßt sich auch die Gewichtsabnahme von Gruppe II leicht erkennen.
Was das Allgemeinbefinden anbelangte, so litten die Tiere der Gruppe III am stärksten. Es verstarben 4 Tiere.

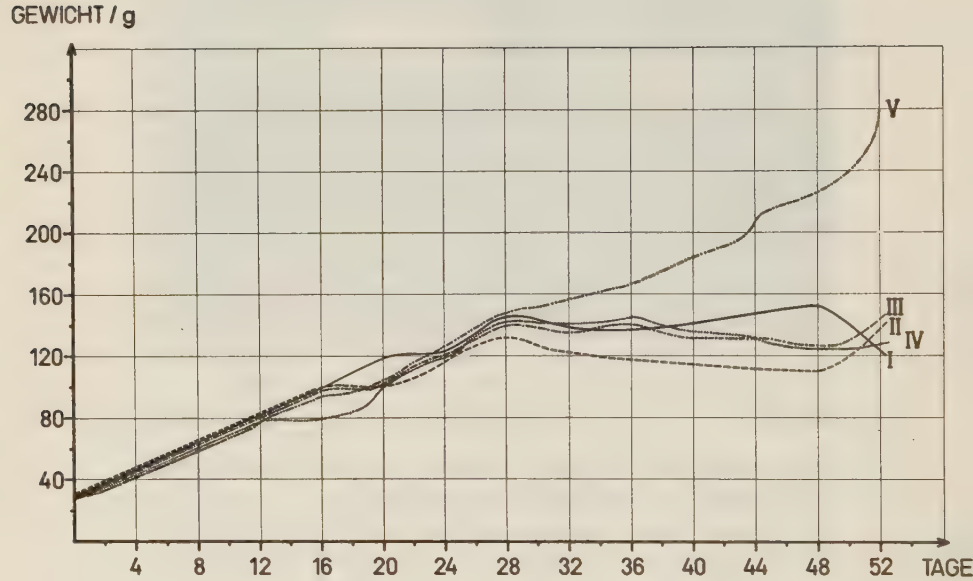


Abb. 3:

Die graphische Darstellung zeigt die Durchschnittsgewichte der Tiere in Abhängigkeit von der Konzentration der verabreichten F-Verbindungsmengen. Bis zum 28. Tag steigen die Gewichte für alle 5 Gruppen linear an. Erst bei der Konzentration von 0,166 % kommt es zur Abweichung der Kurven von der Kontrollgruppe.

Versuchsverlauf von Gruppe IV.

Gruppe IV konnte nicht mit den ersten drei Gruppen verglichen werden, da diese Tiere die Verbindung 242 in fester Form im Futter erhielten. Ferner war die Menge der Verbindung unterschiedlich, die in den ersten einzelnen Phasen gegeben wurden. Es wurden vom

1. - 8. Tag --- 1 mg Verb. 242 pro Tier und Tag = 1. Phase
8. - 16. Tag --- 3 " " " " " " " = 2. Phase
16. - 24. Tag --- 5 " " " " " " " = 3.Phase
24. - 52. Tag ---20 " " " " " " " = 4. Phase

gegeben.

1. Phase:

1 mg Verbindung 242 nahm ein Tier durchschnittlich pro Tag, also 8 mg in 8 Tagen auf. Das Verhalten und Aussehen der Tiere unterschied sich in nichts von der Kontrollgruppe.

2. Phase:

Die Gewichtszunahme und die Futteraufnahme verliefen gleich.

Im weiteren Verlauf wurden in Phase 2 3 mg pro Tier und Tag und in Phase 3 8 mg pro Tier und Tag gegeben. Es zeigten sich keine Veränderungen.
Als dann am 24. Tag (4. Phase) die Konzentration auf 20 mg pro Tier und Tag erhöht wurde, kam es plötzlich zu einer geringeren Nahrungsaufnahme und nach einer Latenzzeit von 4 Tagen zu einem Gewichtsabfall, der in Abbildung 3 ersichtlich ist.

Das Fell wurde etwas glanzloser, der Kot blieb fest, die Tiere waren munter und gesund bis zum 52. Tag. Die Erscheinungen waren also bei weitem nicht so schwer, wie bei den ersten drei Gruppen.

Am 27., 41. und 52. Tag wurden Tiere aus allen Gruppen geopfert. Ihre Auswahl bei den ersten beiden Terminen unterlag folgenden Gesichtspunkten:

1. Verzögerte Pigmentation an den unteren Incisivi (27. Tag, siehe auch Einleitung Seite 3).

2. Schwache Tiere wurden zuerst getötet (41. Tag).

Am 52. Tag wurden die restlichen Tiere getötet.

b) Veränderungen an den unteren Incisivi

Im folgenden Kapitel werden von jeder einzelnen Gruppe die Veränderungen an den unteren Incisivi in Abhängigkeit von der bis zum Tötungstag aufgenommenen Verbindungsmenge beschrieben (siehe auch dazu Tabellen 1 a,b,c,d).

Gruppe I (siehe dazu Anhang Tabelle 1 a)

Zu Beginn des Versuchs waren die Zähne, wie bei allen anderen Gruppen, weiß. Alle 4 Tage wurden die Zähne untersucht. Es stellt sich heraus, daß bis zum 16. Tag des Versuchs (entspricht einer

durchschnittlichen Lebenszeit von 37 Tagen) bei Gruppe V schon die volle Pigmentierung vorhanden war. Bei Gruppe I jedoch waren bei 35 % noch keine Pigmentierung aufgetreten.

Am 27. Tag wurden 4 Tiere geopfert. Ihre bis dahin aufgenommene Menge an Verbindung 242 betrug 124,95 mg (siehe auch Anhang Tab. 2). Der Zahn war unregelmäßig pigmentiert, hatte eine glatte Oberfläche und zeigte keine Abrasion. Nach weiteren 17 Tagen, also am 41. Tag, wurden wieder 4 Tiere geopfert. Die bis dahin aufgenommene Menge an Verbindung betrug 262,73 mg im Durchschnitt pro Tier (siehe Anhang Tab. 2).

An den meisten Zähnen trat eine schwache, undeutliche Streifung auf, die das letztere obere Drittel noch nicht betroffen hatte. Sie war durchsetzt von vereinzelt auftretenden, diffus verteilten, weißen Flecken, die teils an einem, teils an beiden Incisivi zu sehen waren. Die Abrasion war nicht verstärkt im Vergleich zu Gruppe V, die Oberfläche war glatt.

Ein Tier war darunter, dessen linker Incisivus vollkommen weiß war, während der andere eine streifige Pigmentierung aufwies.

Bis zum Ende des Versuchs (52. Tag) stieg die aufgenommene Verbindungsmenge auf 390,61 mg (Anhang Tabelle 2). Die Veränderungen am Schmelz waren jetzt sehr deutlich sichtbar. Die Streifung war stark und kontrastreich, durchsetzt von unscharf begrenzten, diffus weißen Flecken von

rundlicher bis länglicher Form. Dies ist das typische Erscheinungsbild des gefleckten Schmelzes. Die Oberfläche ist noch glatt, hin und wieder fanden wir bei einzelnen Tieren frakturierte Zahnspitzen und stärkere Abrasion - ein typisches Zeichen für die zunehmende Sprödigkeit der Zahnhartsubstanz.

Gruppe II (siehe dazu Anhang Tabelle 1 b)

Wie in der vorigen Gruppe, so waren auch hier die Zähne zu Beginn des Versuchs weiß. Am 16. Tag zeigten noch 40 % der Tiere vollkommen weißen Schmelz.
Am 27. Tag, nach einer Aufnahme von 93,26 mg der Verbindung 335, zeigte sich dasselbe Bild wie bei Gruppe I.

Nach 201,16 mg Gesamtaufnahme zeigten die Zähne noch keine Streifung, wohl aber schon bräunliches Pigment, von weißen, unscharf begrenzten Flecken durchsetzt.

Keine Abrasion und eine glatte Oberfläche waren an $\overline{1|1}$.
Erst nach 317,42 mg, die bis zum 52. Tag aufgenommen waren, machte sich eine schwache Streifung am ganzen Zahn bemerkbar. Die Abrasion war verstärkt. Oft traten frakturierte Spitzen auf, die Oberfläche war rauh.

Gruppe III (siehe dazu Anhang Tabelle 1 c)

Vom 16. Tag an waren die Zähne von 25 % der Tiere noch nicht pigmentiert, während die restlichen 75 % schon bräunliche Verfärbungen aufwiesen.

Am 27. Tag wurden die ersten 4 Tiere dieser Gruppe geopfert. Die durchschnittlich aufgenommende Menge an Verbindung 297 betrug 136,66 mg pro Tier (siehe Anhang Tabelle 1). Die Schmelzveränderungen unterschieden sich in nichts von denen der anderen Gruppen. Nach weiteren 240,70 mg, also zusammen 377,36 mg, wurden wieder 4 Tiere (= 41. Tag) geopfert. Vorherrschend war eine deutliche Streifung am ganzen Zahn, durchsetzt von weißlichen Flecken. Abrasionen und frakturierte Zahnspitzen fielen bei fast allen Tieren dieser Gruppe auf. Der Schmelzmantel war glatt.

Besonders deutlich zeigten sich die Zahnveränderungen am 52. Tag (471,20 mg Verbindung 297 pro Tier). Die Streifung verbreiterte sich und kam deutlich zum Vorschein.
Vereinzelt zerstörten weißliche Flecken das gleichmäßige Muster. Auch hier war das Bild, "mottled enamel" entstanden. Starke Abrasion und frakturierte Schmelzteile an der Spitze waren bei allen Tieren zu sehen. Die Oberfläche war glatt.

Gruppe IV (siehe dazu Anhang Tabelle 1 d)

Diese Gruppe bestand aus 19 Tieren, da ein Tier zu Beginn des Versuches gestorben war und nicht mehr durch ein gleichwertiges ersetzt werden konnte.
Am 27. Tag wurden 4 Tiere geopfert, von denen jedes durchschnittlich 132 mg von Verbindung 242 gefressen haben müßte. Die Schmelzveränderungen sind wie bei den Gruppen I, II und III.

Nach einer Aufnahme von 412 mg (siehe Anhang Tabelle 1 d) bis zum 41. Tag wurden die nächsten 4 Tiere getötet. Es machte sich jetzt schon eine deutliche Streifung, von großen weißen Bezirken unterbrochen, am ganzen Zahn bemerkbar. Die Oberfläche war glatt, die Abrasion verstärkt.
Am 52. Tag, die Verbindungsaufnahme betrug bis dahin 632 mg (siehe Anhang Tabelle 1 d), haben wir gesprenkelten Schmelz. Die Streifung ist kontrastreicher geworden, sieht aber wie von weißen Flecken angefressen aus, so daß z. T. vollkommen weißliche Zähne daraus resultieren. Abrasion war nicht stärker als bei I, II und III, die Oberfläche war glatt.

Zum Vergleich seien hier noch die Zähne der Kontrollgruppe beschrieben (siehe dazu Anhang Tabelle 1 e).
Am 16. Tag waren schon alle Zähne bräunlich pigmentiert. Im weiteren Verlauf verstärkte sich die Farbe, sie wurde dunkelbraun und veränderte sich bis zum Versuchsende nicht. Die Incisivi waren bei den Kontrolltieren länger, bedingt durch geringere Abrasion.

Die folgenden Photos zeigen die scharf ausgeprägte Streifung und deren weitere Zerstörung durch Ausdehnung unverkalkter Stellen.

Abb. 4:

Die Abbildung zeigt die unteren Incisivi einer Osborne-Mendel-Ratte aus Gruppe III nach 52 Versuchstagen. Bis zu diesem Tag hatte sie 471,20 mg Verbindung 297 zu sich genommen.

Abb. 5:

Die Abbildung zeigt die unteren Incisivi einer Osborne-Mendel-Ratte aus Gruppe IV nach 52 Versuchstagen. Bis zu diesem Tag hatte sie 632 mg Verbindung 242 zu sich genommen.

Zum Vergleich sei noch ein Bild von Gruppe V vom 52. Tag gezeigt.

Abb. 6:

Die Abbildung zeigt die unteren Incisivi einer Osborne-Mendel-Ratte der Placebo-Gruppe nach 52 Tagen.

AUSWERTUNG

a) Makroskopische Auswertung der Zahnveränderungen

Es interessiert, nach Schilderung des Versuchsverlaufes, die Frage, ob ein Zusammenhang zwischen der aufgenommenen Menge der jeweiligen Verbindung und den Zahnveränderungen besteht.

Die Werte für die aufgenommenen Verbindungen sind Durchschnittswerte, die sich wie folgt errechnen:

1. Berechnung der durchschnittlichen Flüssigkeitsaufnahme in ml pro 5 Tiere, während der einzelnen Phasen der Fluorerhöhung.

2. Zusammenfassung der 5 Ratten zu Gruppenwerten; eine Gruppe besteht aus 20 Tieren.

3. Umrechnung der Getränkemenge in Verbindungsmenge pro Ratte.

Für die verschiedenen Gruppen ergaben sich folgende Werte:

Versuchsdauer	bis dahin aufgenommene Verbindung in mg von			
	Gruppe I	Gruppe II	Gruppe III	Gruppe IV
	Verb.242	Verb.335	Verb.297	Verb.242
27.Versuchstag	124,95	93,26	136,66	132
41. Versuchstag	262,73	201,16	377,36	412
52. Versuchstag	390,61	317,42	471,20	632

Die so gewonnenen Zahlen in Verbindung mit den Zahnveränderungen zu bringen, ist recht problematisch, da man die Veränderungen nur subjektiv beurteilen kann.

Eine brauchbare Einteilung der Entwicklungsstufen des gefleckten Schmelzes hat Dean, H.T. (1934) gegeben:

1. Normal
2. Questionable
3. Very mild
4. mild
5. moderate
6. moderately severe
7. severe

Zu 1. gehören auch Hypoplasien, die nicht zu "mottled enamel" gerechnet werden können.
Punkt 2 zeichnet sich durch leichte Veränderungen aus, die die Transluzenz des Schmelzes betreffen und zu einem Fleck von 1 mm Durchmesser führen. "Very mild" drückt aus, daß die Flecken unregelmäßig verteilt sind und weniger als 1/4 der Zahnoberfläche bedecken. Unter "mild mottling" versteht Dean weiße durchschimmernde Bezirke, die 50 % des Zahnes ausmachen. An Praemolaren und an Molaren ist ein bläulicher Schimmer zu erkennen, die oberern Incisivi zeigen ein schwaches Braun. Bei 5. ist die Zahnform noch erhalten, aber alle Zahnoberflächen sind befallen: braune Verfärbung, brüchiger Schmelz. Bei 6. sind tiefere Schmelzschichten betroffen und "severe" beinhaltet, daß die normalen Zahnformen nicht mehr erhalten sind. Diese 7. Gruppe ist von Mc. Kay, F.S. (1916) als "corrosion type" bezeichnet worden.

Am 27. Tag wurden die ersten Tiere geopfert. Die Incisivi der Gruppen I - IV entsprachen der 2. bis 3. Gruppe nach Dean: "Questionable " bis "mild

mottling", d.h. also, daß bei durchschnittlich 120 mg/27 Tagen der jeweiligen Verbindung schon gefleckter Schmelz entstanden war. Die Wirkung aller drei Stoffe war ungefähr gleich (siehe Übersichtstabelle).

Am 41. Tag wurden weitere Tiere getötet. Die Incisivi von Gruppe I, III, IV entsprachen der 4. Einteilungsstufe nach Dean: "mild mottling", Gruppe II dagegen stand noch zwischen Dean 3 + 4.

Am 52. Tag wurden die restlichen Tiere präpariert. Die Incisivi der Gruppen I, II, III konnten als "moderate", entspricht Gruppe 5 nach Dean, bezeichnet werden. Die Tiere, die vor Versuchsende gestorben waren, wiesen keine stärkeren Zahnveränderungen auf; man kann also nicht mit Sicherheit sagen, daß sie mehr an Verbindungsmenge zu sich genommen hatten als die Tiere, die bis zum Schluß gelebt haben.

Bemerkenswert ist, daß Gruppe IV, obwohl sie die größte Menge an Verbindung zu sich nahm, relativ geringen Schaden davontrug. Es liegt nahe, anzunehmen, daß Verbindung 242 in Flüssigkeit toxischer wirkt als in Trockenfutter, wie ein Vergleich zwischen Gruppe I und IV zeigt. Von Verbindung 335 wurde am wenigsten aufgenommen, es resultieren jedoch dieselben Zahnveränderungen wie bei den anderen Verbindungen. Zusammenfassend kann gesagt werden, daß alle Verbindungen "mottled enamel" hervorgerufen haben. Ihre Wirkung auf die Zähne war während der Versuchsdauer gleich, die dafür benötigten Mengen unterscheiden sich, wie aus Tabelle 2 zu ersehen ist.

b) Statistische Auswertung des makroskopischen Befundes.

Die Incisivi aller Tiere wurden unter dem Auflichtmikroskop bei 60facher Vergrößerung bewertet. Als Kriterium dienten die unteren Schneidezähne der Kontrollgruppe (Gruppe V), die die Bewertung 1 erhielten. Diese Note entspricht der Einteilung 1 nach Dean. Bei der weiteren Auswertung wurde dann für "very mild" die Note 2, entspricht Gruppe 3 nach Dean, für "mild" (Gruppe 4 nach Dean) und für "moderate" (Gruppe 5 nach Dean) die Note 4 gegeben.
Um die Bewertung weitgehendst zu objektivieren, wurden von jedem Tier beide Incisivi je drei mal im Blindversuch benotet und der Mittelwert bestimmt.

Die Verschiebung zwischen der Notengebung und der Einteilung nach Dean ist darauf zurückzuführen, daß bei der Auswertung kein Fall mit "questionable" eindeutig bestimmt werden konnte. Auch "moderately severe mottling" und"severe mottling" sind in diesem Versuch nicht aufgetreten.

Die statistische Auswertung beschränkt sich auf folgende zwei Möglichkeiten:

1. Es werden die Tiere aller Gruppen miteinander verglichen, die am selben Tag getötet wurden. Die Bewertung der verschiedenen Tiere wurde mit Hilfe des Rangtestes nach Kruskal und Wallis (Pfanzagl, J. 1968) für unverbundene Stichproben statistisch geprüft. Zunächst soll an einem Beispiel der Kruskal-Wallis-Test durchgeführt werden. Den Bewertungen

der Tiere werden Rangnummern zugeteilt und zwar so, daß die kleinste Bewertung die Nummer 1, die zweitkleinste die Nummer 2 usw. und die größte die letzte Nummer erhält; haben mehrere Bewertungen den gleichen Wert, so wird an sie gleichmäßig der Mittelwert ihrer Anordnungszahl gegeben. Die Numerierung erfolgt ohne Rücksicht auf die Gruppe. Aus den Rangnummern jeder Gruppe wird die Summe gebildet.

Für den Kruskal-Wallis-Test gilt nun folgende Beziehung:

$$T = \frac{12}{n\,(n+1)} \cdot \sum_{i=1}^{k} \frac{R_i^{\,2}}{n_i} - 3\,(n+1)$$

wobei "T" der zu errechnende Testwert ist. Diese Größe ("T") ist verteilt nach χ^2 mit 1 Freiheitsgrad (vgl. hierzu Documenta Geigy, Wissenschaftliche Tabellen 1960 S. 36). Die Irrtumswahrscheinlichkeit gilt mit $P \leqq 1\ \%$ als gesichert.
Die Summe der Stichprobenumfänge "n_i" bezeichnet man mit "n". "R_i" ist die Summe der Rangzahlen "R" der "iten" Stichprobe.

52. Tag

Gruppe	I	R	II	R	III	R	IV	R	V	R
	4	46	3	21,5	3	21,5	3,5	34	1	6,5
	4	46	4	46	4	46	3,5	34	1	6,5
	3	21,5	3	21,5	3,5	34	4	46	1	6,5
	3	21,5	3	21,5	3	21,5	3,5	34	1	6,5
	3,5	34	4	46	4	46	3,5	34	1	6,5
	3	21,5	4	46	3,5	34	3	21,5	1	6,5
	3,5	34	3	21,5	3,5	34	4	46	1	6,5
	3,5	34	2,5	13,5	4	46	3	21,5	1	6,5
	3	21,5	4	46			4	46	1	6,5
	3	21,5					3	21,5	1	6,5
	2,5	13,5					3,5	34	1	6,5
	4	46							1	6,5
Summe	n_1 =12	361	n_2 =9	283,5	n_3 =8	283	n_4 =11	372,5	n_5 =12	78

$$T = \frac{12}{n\,(n+1)} \cdot \sum_{i=1}^{k} \frac{R_i^2}{n_i} - 3\,(n+1)$$

$$T = \frac{12}{52\,(53)} \cdot 42922{,}6628 - 159$$

$T = 27{,}7135$

Tabellenwert $T = 13{,}277$

Die Gruppen am 41. Tag und 52. Tag weisen ein gesichertes ($P \leq 1\,\%$) und die vom 27. Tag ein auffälliges Ergebnis ($1\,\% \leq P \leq 5\,\%$) auf.

Man kann also sagen, daß sich die Zahnveränderungen an den jeweiligen Tötungsdaten voneinander unterscheiden.

2. Die andere Möglichkeit der statistischen Auswertung beschränkt sich auf den Wilcoxon-Test (Pfanzagl, J. 1968). Es soll gezeigt werden, wie sich die Bewertung der Incisivi an den verschiedenen Tötungsdaten innerhalb der gleichen Gruppe verhält.

Es werden wieder Rangnummern vergeben (s. o.). Das Wesen der weiteren statistischen Auswertung kann man sich so vorstellen:
Wenn man aus einer Reihe von Rangnummern oft verschiedene Rangnummern entnehmen und die Summe der entnommenen Nummern bilden würde, dann würden kombinatorisch bedingt,bestimmte Rangnummern oft, andere selten, wieder andere sehr selten auftreten. Man prüft, ob die vorliegende Rangsumme der Gruppe I zu den selten auftretenden Summen gehört. Wenn dies der Fall ist, wird die Hypothese zufälliger Entnahmen (O-Hypothese) abgelehnt. Als selten bezeichnen wir nur das Auftreten in höchstens 1 % einer großen Zahl von Versuchen. 1 % ist damit die sogenannte Irrtumswahrscheinlichkeit "P" d.h., in höchstens 1 % verwerfen wir die Zufallshypothese, obwohl sie zutrifft.
Wenn zum Beispiel viele Bewertungen in Gruppe I im Vergleich zu denen der Gruppe II klein sind, erhalten sie kleine Rangnummern; die Rangsumme S I wird dann klein ausfallen. Weicht die Rangsumme so stark von der Erwartung (Durchschnittswert der Rangsumme bei zufälliger Entnahme) ab, daß eine Abweichung gleicher Größe nach unten oder oben zufällig nur in 1 % der Fälle vorkommt, wird die Zufallshypothese abgelehnt.
Als Beispiel seien die Bewertung der Zähne von Gruppe am 41. und 52. Tag aufgezeigt.

Der Unterschied in beiden Stichproben ist signifikant, wenn

$$R_1 - \frac{n_1 (n_1+n_2+1)}{2} \geq c \text{ oder } R_1 - \frac{n_1 (n_1+n_2+1)}{2} \leq$$

ist.

c = Testgröße, zu entnehmen der Tabelle S. 294/5 (Pfanzagl., J. 1968)

R_1= Rangsumme der Gruppe I (Gruppe mit geringer Fallzahl)

n_1= Zahl der Fälle der Gruppe I $\hat{=}$ 41. Tag

n_2= Zahl der Fälle der Gruppe II $\hat{=}$ 52. Tag

41. Tag	R_1	52. Tag	R_2
2,0	1,5	4,0	15
2,0	1,5	4,0	15
2,5	4,0	3,0	8
2,5	4,0	3,0	8
		3,5	12
		3,0	8
		3,5	12
		3,5	12
		3,0	8
		3,0	8
		2,5	4
		4,0	15
$n_1 = 4$	11,0	$n_2 = 12$	125

$$c = R_1 - \frac{n_1 (n_1+n_2+1)}{2}$$

$$c = 11 - \frac{4 (4+12+1)}{2}$$

$$c = -23$$

Nach Tabelle Pfanzagl, J. (1968 s. 294/5) ist c = 21 d.h., daß unser Ergebnis signifikant ist bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $P \leq 1$ %.

Gruppe I erhielt Verbindung 242 in Wasser. Der Wilcoxon-Test für den 41. und 52. Tag weist ein statistisch signifikantes Ergebnis auf. Für 27. und 41. Tag ist das Ergebnis "auffällig".

Gruppe II erhielt Verbindung 335 in Wasser. "Nicht gesichert" lautet die Auswertung am 27. und 41. Tag, zwischen 41. und 52. Tag ist der Unterschied signifikant.

Gruppe III erhielt Verbindung 335 in Wasser. Hier ist der Vergleich zwischen 27. und 41. Tag, also auch zwischen 41. und 52. Tag statistisch gesichert.

Gruppe IV erhielt Verbindung 242 im Futter. Die Auswertung für beide Vergleiche ist "auffällig".

Diskussion

Alle drei organischen Fluorverbindungen haben bei ungefähr 120 mg F pro Tier in 27 Tagen gefleckten Schmelz hervorgerufen, wobei die Verbindungen 242, 335, 297 jeweils im Wasser, und die Verbindung 242 außerdem noch im Futter verabreicht wurde. Die Wahl des ersten Tötungstages (27. Tag) bezog sich auf die ersten Zahnveränderungen, die aufgetreten waren. In allen Gruppen waren gleiche Resultate ("very mild mottling" ≙ Dean Gruppe 3) aufgetreten. Es wurde festgestellt, daß die Verbindungen im Wasser und im Futter gefleckten Schmelz erzeugten. Das schlechte Allgemeinbefinden der Tiere von Gruppe II und III, die die Verbindung 335 bzw. 297 erhielten, läßt einmal auf einen Unterschied gegenüber Gruppe I, die die Verbindung 242 erhielt, schließen; zum anderen war das Befinden von Gruppe IV besser als das von Gruppe I, die zwar dieselbe Verbindung verabreicht bekamen, jedoch Gruppe I im Wasser und Gruppe IV im Futter. Auch erhielt Gruppe IV mengenmäßig viel mehr Verbindung 242 als Gruppe I. Es kann folgender Schluß gezogen werden:

1. Alle drei Substanzen haben gefleckten Schmelz erzeugt, der in der Intensität bei allen Gruppen, trotz verschiedener Mengen der jeweiligen Verbindungen, gleich war.

Unter Bedingungen, die eine ununterbrochene Fluoraufnahme gestatteten, zeigte DeEds, F. (1941), daß eine F-Konzentration von 14 ppm. schon eine entdeckbare Bleichung am Rattenzahn verursachte.

Cheyne, V.D. (1942) erzeugte leichtes "mottling" mit 150 ppm. KF, das einer F-Konzentration von 49 ppm. entspricht.

Im Vergleich dazu betrugen die absoluten F-Mengen, die notwendig waren, um in diesem Versuch den Beginn von geflecktem Schmelz hervorzurufen, für Gruppe I 30 ppm.Fluor, für Gruppe II 22 ppm. Fluor und für Gruppe III 34 ppm.Fluor.

Es ist schwierig, von einem bestimmten Wert zu sprechen, der gerade gefleckten Schmelz hervorruft, weil das Ausmaß der F-Wirkung auf die Zahnentwicklung von der Konzentration der Fluorlösung und dem gegenwärtigen Zustand der Schmelzbildung abhängt.

Im weiteren Verlauf des Versuchs wurden von den Tieren unserer Gruppen bis 80 ppm. F vertragen (Mc. Cauley, H.B. (1944) gibt 200 ppm. NaF an, die umgerechnet 90 ppm. F entsprechen).
Wie ein Vergleich der absoluten F-Mengen zeigt, scheint ihre zerstörende Wirkung auf den Schmelz, ohne Berücksichtigung organischer oder anorganischer Verbindung, gleich zu sein.

2. Das Allgemeinbefinden der Tiere von Gruppe II und III, im Vergleich zu Gruppe I, war schlechter, was wohl auf die verschiedenen Aminfluoride zurückzuführen ist.

Mühlemann, H.R. (1969) stellte fest, daß bei akuter F-Vergiftung mit den organischen Aminfluoriden (Verbindung 297 und 242) und anorganischen Fluoriden, die organischen Verbindungen toxischer waren als NaF.

In einer acht Wochen dauernden Studie konnten die Autoren mit 5 mg F/kg Körpergewicht keine Störung der Gewichtszunahme bemerken.

In dem vorliegenden Versuch machte sich eine Störung der Gewichtszunahme ab 28. Tag bemerkbar (siehe Abb. 3). Sie ist wahrscheinlich auf die Erhöhung der Konzentration bis zu 0,166 %igen Lösungen zurückzuführen.

3. Das Allgemeinbefinden von Gruppe I gegenüber Gruppe IV war auch schlechter, was wohl darauf schließen läßt, daß die Verbindung in Wasser gelöst toxischer ist und vollständiger resorbiert wird, als im Trockenfutter.

Hoffmann, M.M. et al. (1942) fanden in Versuchen mit Ratten, daß die Toxizität einer 0,05 % NaF-Lösung mit Wasser verabreicht, größer war, als im Trockenfutter.
Ein Zahlenvergleich des vorliegenden Versuchs zeigt, daß Gruppe I bis zum 52. Tag 21,09 mg F in Form von Verbindung 242 zu sich genommen hat, während es bei Gruppe IV insgesamt 46,01 mg waren.

Der Versuch von Chanales, J. (1931) zeigt auch, daß die Stärke der Toxizität von der Resorption abhängt. Es wurden 150-200 mg NaF/kg Körpergewicht Ratten iv. injiziert. Diese Mengen führten den Tod der Tiere herbei. Um dasselbe Ergebnis durch Aufnahme von NaF per os zu erreichen, waren 500 mg/kg Körpergewicht nötig.

Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit der Erzeugung von geflecktem Schmelz, "mottled enamel", an den Incisivi von Osborne-Mendel-Ratten, der durch Gaben von organischen Aminfluoriden hervorgerufen wurde.

Für den Versuch standen 100 Ratten zur Verfügung, die in 5 Gruppen zu je 20 Tieren aufgeteilt wurden und mit der jeweiligen Prüfsubstanz gefüttert wurden (Gruppe I-III F-Verbindung im Trinkwasser, Gruppe IV F-Verbindung im Futter). Nach dem 27., 41. und 52. Tag wurden aus jeder Gruppe Tiere geopfert, ihre Kiefer präpariert und die Zahnveränderung an 1H nach der Dean'schen Klassifizierung geordnet.
Es stellte sich heraus, daß in allen Gruppen, außer der Placebogruppe, schon am 27. Tag "mild mottling" auftrag, und im weiteren Verlauf des Versuches die Intensität der Veränderungen mit steigender Menge der jeweiligen Verbindung zunahm.

Die statistische Auswertung der Zahnveränderungen all der Tiere, die am selben Tag getötet wurden, ergab, daß die Gruppen vom 27. Tag ein"auffälliges", vom 41. und 52. Tag ein"signifikantes"Ergebnis aufwiesen.
Die andere Möglichkeit der statistischen Auswertung zeigt, daß sich die Incisivi an den verschiedenen Tötungstagen innerhalb der Gruppe I (sie erhielt Verbindung 242 in Wasser) vom 27. und 41. Tag "auffällig", vom 41. und 52. Tag "signifikant" unterschieden. Bei Gruppe II (Verbindung 335 in Wasser) ist der Unterschied zwischen 27. und 41. Tag "nicht gesichert", dagegen zwischen 41. und 52. Tag "signifikant". In Gruppe III

(Verbindung 297 in Wasser) ist sowohl ein Vergleich der Incisivi vom 27. und 41. Tag und 41. mit 52. Tag statistisch gesichert. Gruppe IV (Verbindung 242 im Futter) zeigt für beide Vergleiche ein auffälliges Ergebnis.

Das Allgemeinbefinden der Tiere wurde bis zum Ende des Versuchs immer schlechter, so daß ein paar der schwächsten Tiere früher als geplant geopfert werden mußten.

Inwieweit die Zahnveränderungen von der Art des Mittels abhängig sind, wurde nicht nachgewiesen. Ob die Ursache des schlechten Allgemeinzustandes der Tiere, besonders von Gruppe II und III während des Versuchs, auf das Fluor oder auf den organischen Träger für das Fluor zurückgeführt werden kann, müßte weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben.

T A B E L L E N

Tabelle 1 a Gruppe I

Anfangsgew.- Endgew. in g		(Diff.)	Lebenszeit in Tagen	Anfangsgew.- Endgew. in g		(Diff.)	Lebenszeit in Tagen
I_1				I_3			
B_1	31-130	(99)	41	B_1	26-163	(137)	52
B_2	25-147	(122)	52	B_2	32-105	(73)	52
B_3	39-184	(145)	52	B_3	37-130	(93)	27
R_1	17-114	(97)	27	R_1	26-140	(114)	41
R_2	18-186	(168)	52	R_2	31-157	(126)	52
I_2				I_4			
B_1	27-138	(111)	27	B_1	26-128	(102)	52
B_2	39-172	(133)	52	B_2	32-108	(76)	41
B_3	36-167	(131)	52	B_3	36-126	(90)	52
R_1	41-125	(84)	52	R_1	31-133	(102)	27
R_2	26-127	(101)	41	R_2	35-122	(87)	52

Tabelle 1 b Gruppe II

II_1				II_2			
B_1	23- 50	(27)	52	B_1	30-128	(98)	52
B_2	31- 62	(31)	41	B_2	36- 84	(48)	41
B_3	41-126	(85)	52	B_3	35-133	(98)	27
R_1	34-100	(66)	48	R_1	25-118	(93)	52
R_2	32-150	(128)	27	R_2	30- 62	(32)	48

Tabelle 1 b Gruppe II

Anfangsgew.- Endgew. in g		(Diff.)	Lebenszeit in Tagen	Anfangsgew.- Endgew. in g		(Diff.)	Lebenszeit in Tagen
II_3				II_4			
B_1	24-102	(78)	41	B_1	28-143	(115)	52
B_2	35-143	(108)	27	B_2	41-108	(67)	52
B_3	42-122	(80)	52	B_3	49-173	(124)	52
R_1	33- 83	(50)	52	R_1	34-138	(104)	41
R_2	36 - 68	(32)	44	R_2	31-130	(99)	27

Tabelle 1 c Gruppe III

III_1				III_2			
B_1	31- 80	(49)	44	B_1	30-144	(144)	27
B_2	32-135	(103)	52	B_2	32- 65	(33)	52
B_3	38-100	(62)	44	B_3	44-138	(94)	52
R_1	31-127	(96)	41	R_1	31-150	(106)	41
R_2	28-115	(87)	27	R_2	25-200	(175)	52
III_3				III_4			
B_1	24- 98	(74)	27	B_1	28-115	(87)	41
B_2	33-110	(77)	48	B_2	34-158	(124)	52
B_3	41-118	(77)	48	B_3	45-164	(119)	52
R_1	34-156	(122)	41	R_1	33-108	(75)	52
R_2	41-117	(76)	52	R_2	34-149	(115)	27

Tabelle 1 d Gruppe IV

Anfangsgew.- Endgew. in g		(Diff.)	Lebenszeit in Tagen	Anfangsgew.- Endgew. in g		(Diff.)	Lebenszeit in Tagen
IV_1				IV_2			
B_1	33-162	(129)	52	B_1	23-110	(87)	27
B_2	33-123	(93)	41	B_2	32-147	(115)	52
B_3	31-136	(105)	52	B_3	34- 97	(63)	41
R_1	30-140	(110)	27	R_1	25-188	(163)	52
R_2	33-152	(119)	52	R_2	29-133	(104)	52
IV_3				IV_4			
B_1	23-140	(117)	52	B_1	20-124	(104)	52
B_2	37-118	(81)	52	B_2	23-158	(135)	52
B_3	37-126	(89)	41	B_3	35-126	(91)	41
R_1	36-168	(132)	27	R_1	24-128	(104)	27
R_2	ist schon gleich zu Beginn des Versuchs gestorben			R_2	34-105	(71)	52

Tabelle 1 e Gruppe V

	Anfangsgew.- Endgew. in g	(Differenz)	Lebenszeit	Durchschnittliche Futteraufnahme während d.Unters.
V_1				
B_1	32 - 153	(121)	41	486 g
B_2	28 - 230	(202)	52	749 g
B_3	27 - 250	(223)	52	749 g
R_1	31 - 128	(97)	27	287 g
R_2	34 - 278	(244)	52	749 g
V_2				
B_1	27 - 150	(123)	41	486 g
B_2	39 - 124	(85)	27	287 g
B_3	33 - 198	(165)	52	749 g
R_1	33 - 285	(252)	52	948 g
R_2	25 - 196	(171)	52	749 g
V_3				
B_1	26 - 240	(114)	52	749 g
B_2	29 - 129	(96)	27	287 g
B_3	31 - 293	(162)	52	749 g
R_1	31 - 210	(179)	52	749 g
R_2	34 - 148	(114)	41	496 g
V_4				
B_1	23 - 122	(99)	41	486 g
B_2	37 - 273	(236)	52	749 g
B_3	40 - 286	(246)	52	749 g
R_1	30 - 123	(93)	27	287 g
R_2	36 - 259	(223)	52	749 g

Tabelle 2

Tag	Gruppe I Verb.242	Gruppe II Verb.335	Gruppe III Verb.297	Gruppe IV Verb.242
27.	124,95	93,26	136,66	132,00
41.	262,73	201,16	377,36	412,00
52.	390,61	307,42	371,20	632,00

Durchschnittliche Aufnahme der jeweiligen Verbindung in mg/Tier bis zum 27., 41. und 52. Tag.

LITERATURVERZEICHNIS

AINSWORTH, N.J. — Mottled teeth
Brit.dent.G. 55, 233 (1933)

CHANELES, G. — Alteraciones generales y dentarias producidas por el fluor en la rata blanca. La radiacion ultravioleta en la fluorosis experimental.
Rev.soc.biol. 2, 317, 340, 352, 376, 386, 394 (1929)

ders. — Fluor und experimentelle Fluorose
Schweiz.Mschr.Zahnheilk. 41, 923 (1931)

CHEYNE, V.D. — Production of graded mottling in molar teeth of rats by feeding of potassiumfluoride
J.dent.Res. 2, 21,145,155 (1942)

COX, G.J., MATUSCHAK, M.C., DIXON, S.F. und WALKER, W.E. — Mottled enamel in rat molars
Science 90, 93 (1939)

CHRISTIAN, H. und GAUTIER, R. — Recherches expérimentales sur la toxicité des fuorrages récoltés dans le voisinage d'une usine productrice d'aluminium.
Ann.Hyg.publ.industr.soc. 3, 141 (1926)

DEAN, H.T. — Classification of mottled enamel diagnosis. J.Amer.dent.Ass. 21, 1425 (1934)

DE EDS, F. — Factors in the etiology of mottled enamel J.Amer.dent.Ass. 28, 1804 (1941)

DOCUMENTA GEIGY Wissenschaftliche Tabellen — 6. Auflage, S. 36 (1960)

HERRMANN, M. und ROZEIK , F. — Zur Toxizitätsfrage des Fluors Schweiz.Mschr.Zahnheilk. 69, 4, 377 (1959)

HOFFMANN, M.M., SCHUCK, C. und FURUTA, W.J. — Histologic study on the effects of fluorine administered in dry and moist diets on teeth of young albino rats. J.dent.Res. 21, 157 (1942)

HÜRNY, Th. — Die Anwendung von Fluorlösungen in der täglichen Praxis Schweiz.Mschr.Zahnheilk. 73, 725 (1963)

JEANNERET, R. — Über den "darmous", den "gefleckten Schmelz" (mottling), die "Dentalfluorose", die "Schmelzhypoplasien", die "chronische Fluortoxicose", die Industrie Fluorschäden beim Haustier und beim Menschen. Schweiz.Mschr.Zahnheilk. 74, 515 (1964)

IRWIN, M., LEAVERS, A.G. und WALSH, J.P.
Further studies on the influence of surface active agents on decalcifications of the enamel surface
J.dent.Res. 36, 166 (1957)

LEVERTON, R.M. und SMITH, M.C.
The relation of calcium and phosphorous in the diet to the cause of mottled enamel of human teeth
J.home Econ. 24, 1091 (1952)

MARTHALER, Th.M.
Toxicity studies with sodium fluoride and amine fluoride
Helv.odont.Acta 4,33,50 (1960)

ders.
Toxic effects in diet of sodium fluorides and amine fluorides
Helv.odont.Acta 6, 15 (1962)

McCAULEY, H.B.
Effects of fluorosis on the deposition of phosphor in bones and teeth of young rats as indicated by radioactive phosphor
J.dent.Res. 23, 207 (1944)

McKAY, F.S. und BLACK, G.V.
An investigation of mottled teeth
Dent.Cos.58, 5 (1916)
Philadelphia

MÜHLEMANN, H.R.
Die Kariesprophylaktische Wirkung der Aminfluoride, 10 Jahre Erfahrung
Quintessenz 18, Referat 3192
Hefte 5-8 (1967)

MÜHLEMANN, H.R., SCHMID, H. und KÖNIG, K.G.
Enamel solubility reduction studies with inorganic and organic fluorides
Helv.odont.Acta 1, 23 (1957)

MÜHLEMANN, R., KÖNIG, K.G., MARTHALER, Th.M., SCHAIT, A. und SCHMID, H.
Organische Fluoride
Schweiz.Mschr.Zahnheilk. 70, 1037 (1960)

NEWBRUN, E., und BRUDEVOLD, F.
Microradiographic and microhardeness studies on fluorosed enamel
J.dent.Res. 38, 4, 647 (1959)

PANDE, P.G.
Dental and osseous changes in spontaneous fluorosis in rats
Ind.J.med.Res. 33, 1 (1945)

PFANZAGL, J.
Allgemeine Methodenlehre der Statistik II:
Sammlung Göschen Band 747/747a
3, 152 (1968)

RIETHE, P.
Die Anreicherung des Schmelzes von Oberkiefermolaren mit Fluoriden nach lokaler Applikation von Aminfluorid an Molaren des Unterkiefers bei Osborne-Mendel-Ratten
Dtsch.zahnärztl.Z. 23, 154 (1968)

SCHMIDT, H.J.
Zahnkariesprophylaxe durch Fluoride
Dr. Alfred Hüthig Verlag 2, 79 (1967) Heidelberg

SCHOUR, J., und SMITH, M.C.
Mottled enamel: an experimental and histological analysis
J.Amer.dent.Ass. 22, 796 (1935)

SMITH, M.C. LANTZ, E.M. und SMITH, H.V.
The cause of mottled enamel
Science 74, 244 (1931)

SPIRAL, L. Experimental fluorosis in rats
Expl. med. Surg. 7, 134 (1949)

STACK, M.V. The organic content of chalky enamel
Brit.dent.G. 96, 73 (1954)

VELU, H. und CHARNOT, A. Données nouvelles sur l'étiologie et la pathogénie du darmous
Bull.inst.hyg.Maroc. 1, 2
5-26 (1938)

Herrn Professor Dr. Dr. P. Riethe danke ich
für die Überlassung des Themas, sowie für die
hilfreiche Unterstützung bei dieser Arbeit.

Lebenslauf

Am 26. Mai 1941 wurde ich, Wolf Jo Neddermeyer, in Berlin geboren. 1963 bestand ich im Johannes-Gutenberg-Gymnasium zu Mainz die Reifeprüfung und immatrikulierte mich im gleichen Jahr in Mainz an der Johannes-Gutenberg-Universität, für das Fach Zahnmedizin, wo ich nach fünf Semestern das Physikum bestand. Nach weiteren fünf Semestern legte ich am 22.7.1968 das Staatsexamen ab.
Während des klinischen Studiums war ich noch ein Jahr in Berlin.
Im Oktober 1968 folgte ich meinem Doktorvater, Herrn Professor Dr. Dr. Peter Riethe, nach Tübingen und bin nun in der Tübinger Klinik für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten als Assistent tätig.